

1651

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Patent Application of

DE SIMONE

Atty. Ref.: 2818-72

Serial No. 10/024,199

Group: 1651

Filed: December 21, 2001

Examiner: Ware

For: COMBINATION OF LACTIC ACID BACTERIA AND ITS
USE FOR THE PREVENTION AND/OR TREATMENT OF
INFECTIONS AND INFLAMMATORY CONDITIONS

* * * * *

January 22, 2003

Assistant Commissioner for Patents
Washington, DC 20231

Sir:

RECEIVED

JAN 24 2003

TECH CENTER 1600/2900

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENTS

It is respectfully requested that this application be given the benefit of the foreign filing date under the provisions of 35 U.S.C. §119 of the following, a certified copy of which is submitted herewith:

<u>Application No.</u>	<u>Country of Origin</u>	<u>Filed</u>
RM99A000400	IT	21/06/1999

Respectfully submitted,

NIXON & VANDERHYE P.C.

By: _____

Arthur R. Crawford
Reg. No. 25,327

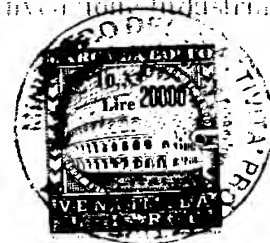
ARC:caw
1100 North Glebe Road, 8th Floor
Arlington, VA 22201-4714
Telephone: (703) 816-4000
Facsimile: (703) 816-4100



Ministero delle Attività Produttive
Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi
Ufficio G2

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: *Invenzione industriale*

N. *RM99 A 000100*



*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

RECEIVED

JAN 24 2003

TECH CENTER 1600/2900

Roma, li *14 OTT. 2002*

IL DIRIGENTE

Eleonora Pinelli

A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione **MEDES s.p.a.**
Residenza **Ardea (Roma)**

codice

2) Denominazione

Residenza

codice

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome **Dott. Fabio Cavattoni ed altri**

cod. fiscale

denominazione studio di appartenenza

Studio Associato CAVATTONI - RAIMONDIvia **le dei Parioli**n. **160** città **Roma**

cap

(prov) **RM**

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via

n. città

cap

(prov)

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci)

gruppo/sottogruppo

"Associazione di batteri lattici e suo uso per la prevenzione e/o il trattamento terapeutico di infezioni e di stati infiammatori"

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) **DE SIMONE Claudio**

3)

2)

4)

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

1) **nessuna**

2)

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) **2** **PROV** n. pag. **16** riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
Doc. 2) **0** **PROV** n. tav. **1** disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
Doc. 3) **1** **RIS** lettera d'incarico, ~~non presentata~~
Doc. 4) **1** **RIS** designazione inventore
Doc. 5) **0** **RIS** documenti di priorità con traduzione in italiano
Doc. 6) **0** **RIS** autorizzazione o atto di cessione
Doc. 7) **0** nominativo completo del richiedente

8) attestati di versamento, totale lire

Trecentosessantacinquemila-

obbligatorio

COMPILATO IL **21.06.1999**

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

Dott. Fabio CavattoniCONTINUA SINO **NO**DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SINO **SI**UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI **Roma****RM 99 A 000400**codice **58**

VERBALE DI DEPOSITO NUMERO DI DOMANDA

L'anno millenovecento **novantanove**il giorno **ventuno**del mese di **giugno**Il (I) richiedente (I) sopraindicato (I) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. **00** fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraindicato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

IL DEPOSITANTE

Daniela Angelini

UFFICIO ROGANTE
L'Ufficiale Rogante
Silvia Altieri

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA

REG. A

DATA DI DEPOSITO 21/06/1999

NUMERO BREVETTO

RM 99 A 000400

DATA DI RILASCIO



A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

MENDES SAURALA

Residenza

Ardea (Roma)

D. TITOLO

"Associazione di batteri lattici e suo uso per la prevenzione e/o
il trattamento terapeutico di infezioni e di stati infiammatori"

Classe proposta (sez./cl./scl.)

(gruppo/sottogruppo)

L. RIASSUNTO

Vengono resi noti una associazione di batteri lattici che comprende:

(a) un primo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici produttori di H_2O_2 , e

(b) un secondo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici utilizzatori di arginina,

ed il suo uso per produrre un integratore alimentare, un prodotto per l'igiene od un farmaco per la prevenzione e/o il trattamento terapeutico di infezioni e di stati infiammatori provocati da batteri, virus o funghi, in particolare a carico della cavità orale e delle strutture vaginali, uretrali, nasali, oculari ed auricolari.

M. DISEGNO

DESCRIZIONE

RM 99 A 000400

dell'invenzione avente per titolo: "Associazione di batteri lattici e suo uso per la prevenzione e/o il trattamento terapeutico di infezioni e di stati infiammatori"

a nome: MENDES s.u.r.l.
di nazionalità: italiana
con sede in: Via Nuoro 12, Ardea RM
Inventore: Claudio DE SIMONE

---000---

La presente invenzione riguarda una associazione di batteri lattici e il suo uso per produrre un integratore alimentare, un prodotto per l'igiene od un farmaco per la prevenzione e/o il trattamento terapeutico di infezioni e di stati infiammatori provocati da batteri, virus o funghi, in particolare a carico della cavità orale e delle strutture vaginali, uretrali, nasali, oculari ed auricolari.

I batteri lattici sono batteri Gram-positivi che producono l'acido lattico dalla fermentazione del glucosio. Per convenzione, in questa definizione viene incluso anche lo *Streptococcus thermophilus*.

È noto che ceppi di batteri lattici produttori di H_2O_2 possono agire come regolatori della flora batterica a livello degli orifizi corporei e delle mucose. Si è visto che i batteri lattici produttori di H_2O_2 possono antagonizzare *E. coli*, *N. gonorrhoeae*, *G. vaginalis*, *C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *B. bivius*. Pur tuttavia, tali batteri sono di limitata efficacia se utilizzati nella pratica medica, come

dimostrato dal fatto che le preparazioni a base di batteri lattici (ad esempio gli ovuli vaginali) per il trattamento delle infezioni causate dai sopracitati germi (ad esempio le vaginiti) sono tenute in ridotta considerazione dai medici che preferiscono trattare i pazienti con antibiotici o chemioterapici.

Nessuna attività antibatterica o regolatoria della flora a livello degli orifizi corporei e delle mucose è stata descritta a conoscenza dell'inventore per quel che riguarda i batteri lattici che utilizzano arginina.

Ora è stato sorprendentemente trovato che l'attività dei batteri lattici produttori di H_2O_2 risulta notevolmente potenziata dall'aggiunta di uno o più ceppi di batteri lattici in grado di utilizzare l'arginina. L'arginina è presente in vari piccoli peptidi rilevabili nei liquidi biologici o come arginina tal quale, e molte specie batteriche la utilizzano per i propri fini nutrizionali e di accrescimento. I batteri lattici che utilizzano arginina possono quindi privare altri batteri patogeni o potenzialmente patogeni di una quantità tale di arginina, che pur non essendo sufficiente a bloccarne la crescita, li rende più suscettibili all'azione dell' H_2O_2 prodotta dai batteri lattici.

Pertanto, secondo la presente invenzione, viene fornita una associazione di batteri lattici comprendente

(a) un primo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici produttori di H_2O_2 , e

(b) un secondo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici utilizzatori di arginina.

Preferibilmente, il ceppo di batteri lattici del componente (a) è scelto nel gruppo costituito dai ceppi delle specie *Lactobacillus crispatus* e *Lactobacillus salivarius* ed il ceppo di batteri lattici del componente (b) è scelto nel gruppo costituito dai ceppi delle specie *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus fermentum*. Più preferibilmente, il ceppo di batteri lattici del componente (b) è il ceppo di *Lactobacillus brevis* CD2 depositato presso il DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germania, con il numero di accesso DSM 11988.

Il rapporto tra il numero di batteri del componente (a) e il numero di batteri del componente (b) è preferibilmente da 1:100 a 100:1, più preferibilmente da 1:5 a 5:1. In modo massimamente preferito, detto rapporto è di 1:1.

L'associazione può essere somministrata sotto forma di dosaggio unitario comprendente da 1×10^2 a 5×10^{11} di batteri del componente (a) e da 1×10^2 a 5×10^{11} di batteri del componente (b), preferibilmente 1×10^9 di batteri del componente (a) e 3×10^9 di batteri del componente (b).

L'associazione può altresì essere somministrata sotto forma di compresse, compresse masticabili, caramelle, gomme da masticare, gelatine, ovuli, supposte e microclismi, oppure sotto forma di granulati, creme e gel dentali, polveri per protesi, colluttori, dentifrici, sprays, sospensioni e pomate.



Secondo una ulteriore forma di realizzazione dell'invenzione, l'associazione comprende ulteriormente almeno un altro ceppo di batteri lattici scelto nel gruppo costituito da *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus catenaforme*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus leichmanii*, *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium eriksonii*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium plantarum* e *Streptococcus thermophilus*.

L'associazione può inoltre comprendere vitamine, basi ammoniche quaternarie, sali minerali, antiossidanti e agenti antiplacca.

Sempre secondo l'invenzione, viene fornito l'uso di una associazione di batteri lattici comprendente

- (a) un primo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici produttori di H_2O_2 ; e
 - (b) un secondo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici utilizzatori di arginina,
- per produrre un integratore alimentare, un prodotto per l'igiene od un farmaco per la prevenzione e/o il trattamento terapeutico di infezioni e di stati infiammatori provocati da batteri, virus o

funghi, in particolare a carico della cavità orale e delle strutture vaginali, uretrali, nasali, oculari ed auricolari. Le infezioni e gli stati infiammatori comprendono gengiviti, peridontiti, mucositi o stomatiti da farmaci e/o da agenti fisici, sindrome di Behçet, diacheratosi del cavo orale, glossite, angina, sialoadenite, sialolitiasi, pemfigo, *Lichen planus*, sindrome di Sjögren, vaginosi, vaginiti, uretriti, prostatiti, proctiti, otiti, congiuntiviti, riniti, sinusiti, leucoplachia, afte, infezioni erpetiche, e infezione da *Helicobacter pylori* a livello della cavità orale.

L'associazione potrà inoltre essere usata vantaggiosamente per il trattamento della cavità orale come agente deodorante, antinfiammatorio, agente anticarie e/o antiplacca.

Gli esempi che seguono illustrano ulteriormente i vari aspetti dell'invenzione, ma non devono essere considerati in alcun senso limitativi della medesima.

Esempio 1

È stato valutato l'effetto inibitorio di batteri lattici produttori di H_2O_2 (componente A), di batteri lattici utilizzatori di arginina (componente B) e dell'associazione dei due ceppi, nel caso specifico in rapporto 1:1, (associazione AB), sulla crescita di batteri potenzialmente patogeni.

In breve, la coltura del battero lattico da saggiare è stata portata a pH neutro, in quanto il pH acido è di per sé un inibitore della crescita batterica. La sospensione è stata filtrata sterilmente ed il filtrato è stato utilizzato per bagnare dei dischetti di carta

assorbente (30 µl di filtrato per dischetto). I dischetti sono stati disposti in una piastra di terreno selettivo di crescita precedentemente inoculata con 0,1 ml di *Gardnerella vaginalis* (un ceppo di isolamento clinico, agente eziologico delle vaginosi), unitamente ad un dischetto di controllo imbevuto con solo 30 µl di acqua distillata. Dopo 24 ore di incubazione a 37° C, l'inibizione della crescita dei patogeni viene valutata dal diametro (in mm) dell'alone attorno al dischetto.

In una seconda serie di esperimenti, come patogeno di riferimento è stato utilizzato lo *Streptococcus mutans* (agente eziologico della placca dentale e della carie).

Relativamente alla caratterizzazione dei batteri come produttori di H₂O₂ è stata utilizzata una classica reazione benzidina-perossidasi, che consente di evidenziare le colonie batteriche producenti H₂O₂ in base all'assunzione del colore blu. Per valutare la capacità di utilizzazione dell'arginina è stata valutata l'attività di arginina deidrolasi (M. C. Manca de Nadra, Milchwissenschaft, 37: 669-670, 1982).

I ceppi di batterici lattici sono stati ottenuti dalla American Type Culture Collection, Rockville, U.S.A. (ATCC).

<u>Ceppo batterico</u>	<u>Alone di inibizione (attività anti-<i>G. vaginalis</i>)</u>
Produttore di H ₂ O ₂ (componente A)	
<i>Lactobacillus crispatus</i> (ATCC 39197)	75
<i>Lactobacillus salivarius</i> (ATCC 11741)	60
<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus salivarius</i>	63

Utilizzatore di arginina (componente B)

<i>Lactobacillus brevis</i> (ATCC 14869)	0
<i>Lactobacillus fermentum</i> (ATCC 14931)	2
<i>Lactobacillus brevis</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	0

Associazione AB (rapporto A:B pari a 1:1)

<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i>	112
<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	100
<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus brevis</i>	117
<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	104

Ceppo batterico

Alone di inibizione (attività anti-*S. mutans*)Produttore di H₂O₂ (componente A)

<i>Lactobacillus crispatus</i> (ATCC 39197)	98
<i>Lactobacillus salivarius</i> (ATCC 11741)	102
<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus salivarius</i>	99

Utilizzatore di arginina (componente B)

<i>Lactobacillus brevis</i> (ATCC 14869)	0
<i>Lactobacillus fermentum</i> (ATCC 14931)	1
<i>Lactobacillus brevis</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	1

Associazione AB (rapporto A:B pari a 1:1)

<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i>	118
<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	126
<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus brevis</i>	121
<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	120

Esempio 2

Sono state fabbricate delle compresse masticabili con la seguente composizione unitaria:

Associazione AB (<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus brevis</i> , rapporto 1:1)	4 miliardi
Mannitolo	400 mg
Saccarina	5 mg
Poliossietilene	50 mg
Mg stearato	15 mg
Talco	25 mg
Silicone diossido	5 mg

Tali compresse sono state somministrate a 4 volontari, cui era stato proibito nella settimana precedente di lavarsi i denti e di masticare gomme americane. Sono state somministrate 3 compresse al giorno da sciogliere in bocca dopo i pasti per una settimana. Sono state effettuate valutazioni cliniche sia per l'indice di placca dentale, sia per l'indice di placca gengivale.



Per la placca dentale è stato adottato il seguente punteggio, valutato su sei denti (primo molare mascellare destro; incisivo centrale mascellare sinistro; primo premolare mascellare sinistro; primo molare mandibolare sinistro; incisivo centrale mandibolare destro; primo premolare mandibolare destro):

- 0 = assenza di placca
- 1 = assenza di placca visibile
- 2 = placca visibile
- 3 = placca grossolanamente visibile

Per la placca gengivale è stato adottato il seguente punteggio, selezionando il bordo dei sei denti precedentemente citati:

- 0 = assenza di infiammazione
- 1 = lieve infiammazione,
- 2 = moderata infiammazione, sanguinamento al contatto
- 3 = notevole infiammazione, tendenza al sanguinamento spontaneo.

I risultati cumulativi per i sei denti, relativamente ai 4 volontari sono stati:

Soggetto	Indice di placca dentale		Indice di placca gengivale	
	0	7 gg	0	7 gg
#1	8	2	7	1
#2	9	3	10	3
#3	15	5	6	2
#4	15	7	8	3

Esempio 3

Quattro soggetti con diagnosi clinica ed istologica di ulcerazioni aftose ricorrenti sono stati trattati per 10 giorni con 6 compresse masticabili al giorno la cui composizione è riportata nell'Esempio 2.

Al termine dei 10 giorni di trattamento, in tutti i pazienti trattati vi è stata una completa guarigione delle ulcerazioni e nessuna comparsa di nuove ulcerazioni durante il mese successivo.

Per migliorare il gusto e l'aspetto dell'associazione batterica AB, possono essere aggiunti appropriati coloranti e dolcificanti, quali saccarina, menta, xilitolo, come è comune ed è ben noto agli esperti del settore.

L'associazione AB può essere somministrata sotto forma di granulato, caramelle, gomme americane, gelatine, creme e gel dentali, polvere per protesi, colluttori, dentifrici, compresse, ovuli, supposte, spray, sospensioni o microclismi.

Esempio 4

Preparazione di una pasta dentifricia

Pasta base

Composizione percentuale:

Fosfato di calcio diidrato	37,5%
Glicerina (85% in acqua)	30,0%
Aroma (olio essenziale di menta piperita)	1,0%
Sodio carbossimetilcellulosa	1,0%
Acqua depurata	20,8%
Saccarina sodica (soluzione acquosa all'1%)	2,5%
Sodio laurilsolfato	2,0%
Acqua depurata	5,2%
	<hr/>
	100,0%

Composizione in peso:

Fosfato di calcio diidrato	337,5 g
Glicerina (85% in acqua)	270,0 g
Aroma (olio essenziale di menta piperita)	9,0 g
Sodio carbossimetilcellulosa	9,0 g
Acqua depurata	187,2 g
Saccarina sodica (soluzione acquosa all'1%)	22,5 g
Sodio laurilsolfato	18,0 g
Acqua depurata	48,8 g
	<hr/>
	900,0 g

Al fosfato di calcio diidrato, previamente macinato e passato su un setaccio da 50 mesh, è stata aggiunta la glicerina. Si è lasciato idratare il tutto, ottenendo una pasta densa omogenea. A questo punto, è stato aggiunto l'aroma, vale a dire l'olio essenziale di menta piperita in una percentuale dell'1%.

La sodio carbossimetilcellulosa è stata lasciata idratare per una notte in acqua (concentrazione al 4,6% in acqua depurata).

Alla soluzione (gel denso) è stata aggiunta la soluzione di saccarina sodica.

Il gel polimerico è stato versato in un mortaio sulla massa di fosfato di calcio idrato con la glicerina ed il tutto è stato mescolato energicamente.

A parte è stata preparata una soluzione di sodio laurilsolfato ad una concentrazione di circa il 28% in acqua depurata.

Alla pasta densa di fosfato dicalcico è stata quindi aggiunta la soluzione di sodio laurilsolfato.

La pasta densa, omogenea, ottenuta presenta buone caratteristiche reologiche. La pasta viene miscelata per alcuni minuti e

raffinata mediante passaggio su raffinatrice a rulli. Si ottiene una pasta omogenea di colore bianco candido e di gradevole profumo di menta.

Alla pasta dentifricia base residua (770 g) vengono aggiunti in piccole porzioni fino all'ottenimento di una pasta omogenea 38,5 g di batteri lattici liofilizzati (*L. salivarius* + *L. brevis*, 1:1; 10^{10} CFU/g) preliminarmente setacciati su setaccio da 50 mesh. Si ottiene una pasta omogenea, di colore leggermente nocciola pallido e con profumo di menta.

Esempio 5

Preparazione di compresse vaginali a rilascio rapido

Sono state ottenute con il metodo della granulazione a umido delle compresse vaginali rivestite con uno strato effervescente aventi ciascuna un peso di 2.100 mg e contenenti 100 mg di associazione di batteri lattici quale principio attivo.

Ogni compressa vaginale presenta la seguente composizione unitaria:

Batteri lattici liofilizzati setacciati [<i>L. brevis</i> (30×10^9 g), <i>L. salivarius</i> (30×10^9 g), <i>L. plantarum</i> (90×10^9 g)]	100,0 mg
Lattosio	1.368,0 mg
Amido di mais	246,0 mg
Acido adipico	192,0 mg
Sodio bicarbonato	150,0 mg
Magnesio stearato	30,0 mg
Acido stearico	9,0 mg
Silice colloidale	5,0 mg
	<hr/>
	2.100,0 mg

RIVENDICAZIONI

R M 99 A 000400

1. Associazione di batteri lattici comprendente
 - (a) un primo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici produttori di H_2O_2 , e
 - (b) un secondo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici utilizzatori di arginina.
2. Associazione secondo la rivendicazione 1, in cui il ceppo di batteri lattici del componente (a) è scelto nel gruppo costituito dai ceppi delle specie *Lactobacillus crispatus* e *Lactobacillus salivarius* ed il ceppo di batteri lattici del componente (b) è scelto nel gruppo costituito dai ceppi delle specie *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus fermentum*.
3. Associazione secondo la rivendicazione 2, in cui il ceppo di batteri lattici del componente (b) è il ceppo di *Lactobacillus brevis* CD2 depositato presso il DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germania, con il numero di accesso DSM 11988.
4. Associazione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3, in cui il rapporto tra il numero di batteri del componente (a) e il numero di batteri del componente (b) è da 1:100 a 100:1.
5. Associazione secondo la rivendicazione 4, in cui detto rapporto è da 1:5 a 5:1.
6. Associazione secondo la rivendicazione 5, in cui detto rapporto è di 1:1.



7. Associazione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, sotto forma di dosaggio unitario, comprendente da 1×10^2 a 5×10^{11} di batteri del componente (a) e da 1×10^2 a 5×10^{11} di batteri del componente (b).
8. Associazione secondo la rivendicazione 7, comprendente 1×10^9 di batteri del componente (a) e 3×10^9 di batteri del componente (b).
9. Associazione secondo la rivendicazione 7 o 8 sotto forma di compresse, compresse masticabili, caramelle, gomme da masticare, gelatine, ovuli, supposte e microclismi.
10. Associazione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 6 sotto forma di granulati, creme e gel dentali, polveri per protesi, colluttori, dentifrici, sprays, sospensioni e pomate.
11. Associazione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, comprendente ulteriormente almeno un altro ceppo di batteri lattici scelto nel gruppo costituito da *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus catenaforme*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus leichmanii*, *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium eriksonii*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium*

plantarum e *Streptococcus thermophilus*.

12. Associazione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, comprendente ulteriormente vitamine, basi ammoniche quaternarie, sali minerali, antiossidanti e agenti antiplacca.

13. Uso di una associazione di batteri lattici comprendente

(a) un primo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici produttori di H_2O_2 ; e

(b) un secondo componente costituito da almeno un ceppo di batteri lattici utilizzatori di arginina,

per produrre un integratore alimentare, un prodotto per l'igiene od un farmaco per la prevenzione e/o il trattamento terapeutico di infezioni e di stati infiammatori provocati da batteri, virus o funghi, in particolare a carico della cavità orale e delle strutture vaginali, uretrali, nasali, oculari ed auricolari.

14. Uso secondo la rivendicazione 13, in cui, le infezioni e gli stati infiammatori comprendono gengiviti, peridontiti, mucositi o stomatiti da farmaci e/o da agenti fisici, sindrome di Behçet, diaccheratosi del cavo orale, glossite, angina, sialoadenite, sialolitiasi, pemfigo, *Lichen planus*, sindrome di Sjögren, vaginosi, vaginiti, uretriti, prostatiti, proctiti, otiti, congiuntiviti, riniti, sinusiti, leucoplachia, afte, infezioni erpetiche, e infezione da *Helicobacter pilori* a livello della cavità orale.

15. Uso secondo la rivendicazione 13 o 14 per il trattamento della cavità orale come agente deodorante, antinfiammatorio, agente anticarie e/o antiplacca.

p.i. di MENDES s.u.r.l.

Dott. Fabio Cavattoni



TRANSLATION

MINISTRY OF INDUSTRY, COMMERCE AND HANDICRAFT
GENERAL DIRECTORATE OF THE INDUSTRIAL PRODUCTION
ITALIAN PATENT AND TRADEMARK OFFICE

(stamps)

Authentication of a copy of documents relating to
patent application No. RM 99 A 000400

It is declared that the attached copy is true to the
original documents filed with the above application,
the data of which result from the enclosed filing
record.

Rome, June 2, 2000

(seal)

The Director of the
Department

(signature) Ing. Di Carlo

To the MINISTRY OF INDUSTRY, COMMERCE AND HANDICRAFT

Form A (stamp)

ITALIAN PATENT AND TRADEMARK OFFICE- ROME

Patent application, Filing of reservations, Pre-accessibility to the public

A. Applicant(s):

1) Name: MENDES s.u.r.l. Juridical Form SR

Residence Ardea (Rome) Code

2) Name: Juridical Form

Residence Code

B. Representative of Applicant before the I.P.T.O.:

Surname, Name Dott. Fabio Cavattoni et al.

fiscal code

Name of the office Studio Associato Cavattoni -
Raimondi

Street: Viale dei Parioli No. 160 City: Rome

Zip code: 00197 (Prov.): Rome

C. Elected Domicile of Applicant:

Street: City:

Zip code: (Prov.):

D. Title: Proposed class (sect./cl./subcl.):

group/subgroup

"Combination of lactic acid bacteria and its use
for the prevention and/or treatment of infections and
inflammatory conditions"

Pre-accessibility to the public YES NO NO if
petition: date file No.

E. Appointed Inventors: Surname, Name Surname, Name

1) DE SIMONE Claudio 3)

2) 4)

F. Priority:

Country or organisation Kind of priority Appln. No.

Filing date Encl. Y/R

1) None

G. Recognized Authority for the Deposit of Micro-organisms, name: none

H. Special Remarks:

(stamps)

WITHDRAWAL OF RESERVATIONS

Date File No.

DOCUMENTS ENCLOSED

Number of copies

Doc. 1) 2 Prov. No. of pages 16 Abstract with main drawing, description and claims (compulsory: 1 copy)

Doc. 2) 0 Prov. No. of sheets Drawing (compulsory when cited in the description), 1 copy

Doc. 3) 1 Res. Power of attorney

Doc. 4) 1 Res. Appointment of inventor

Doc. 5) 0 Res. Priority document with Italian translation

Doc. 6) 0 Res. Authorization or assignment

Doc. 7) 0 Res. Complete name of applicant

8) Certificates of payment, Total Lire 365.000, compulsory

WITHDRAWAL OF RESERVATIONS

Date: File No.

Compare individual priorities

Drawn up on June 21, 1999 Applicant(s) Signature
(signature)

To be continued YES/NO NO Dott. Fabio Cavattoni

It is applied for a certified copy of this act YES/NO
YES

Provincial Office of Industry, Commerce and Handicraft
of Rome

Code: 58

Filing Record: Application No. RM 99 A 000400A Reg

In the year 1999, the 21th day of the month of June,
the above applicant(s) has/have submitted to the
undersigned this application accompanied by 00
additional sheets for the granting of the above
patent.

I. Various Remarks by the Recording Officer:

The Applicant (stamp)	The Recording Officer
(signature illegible)	(signature illegible)

Prospect "A"

Abstract of the patent with main drawing, description
and claims

Application No. RM 99 A 000400 Reg. A

Filing date June 21, 1999

Patent No. Granting date

D. Title

"Combination of lactic acid bacteria and its use for
the prevention and/or treatment of infections and
inflammatory conditions"

L. Abstract

The disclosure is of a combination of lactic acid
bacteria comprising:

(a) a first component consisting of at least one
strain of H₂O₂-producing lactic acid bacteria, and

(b) a second component consisting of at least
one strain of arginine-utilizing lactic acid bacteria.

The disclosure is also of the use of this combination
for making a food supplement, a hygiene product or a
pharmaceutical preparation for the prevention and/or
treatment of infections and inflammatory conditions
caused by bacteria, viruses or fungi, especially in the
mouth, vagina, urethra, nose, eyes and ears.

M. Drawing

DESCRIPTION

of the invention with the title: "Combination of lactic acid bacteria and its use for the prevention and/or treatment of infections and inflammatory conditions"

in the name of: MENDES s.u.r.l.
of nationality: Italian
with seat at: Via Nuoro 12, Ardea RM
Inventor: Claudio DE SIMONE

The present invention relates to a combination of lactic acid bacteria and its use for making a food supplement, a hygiene product or a pharmaceutical preparation for the prevention and/or treatment of infections and inflammatory conditions caused by bacteria, viruses or fungi, especially in the mouth, vagina, urethra, nose, eyes and ears.

Lactic acid bacteria are Gram-positive bacteria that produce lactic acid by the fermentation of glucose. *Streptococcus thermophilus* is also included in this definition by convention.

It is well known that strains of lactic acid bacteria that produce H_2O_2 can act as regulators of the bacterial flora in body orifices and on mucous membranes. It has been demonstrated that H_2O_2 -producing lactic acid bacteria can antagonize *E. coli*, *N. gonorrhoea*, *G. vaginalis*, *C. trachomatis*,

U. urealyticum and *B. bivius*. However, these bacteria are only of limited benefit when used in medical practice. This can be seen from the fact that preparations based on lactic acid bacteria (e.g. vaginal pessaries) intended for the treatment of infections by the above microorganisms (e.g. vaginitis) are not held in high regard by doctors, who prefer to treat their patients with antibiotics or chemotherapeutic agents.

To the best of the inventor's knowledge, no antibacterial or flora-regulating action in body orifices and on mucous membranes has been attributed to arginine-utilizing lactic acid bacteria.

It has now been found surprisingly that the activity of H_2O_2 -producing lactic acid bacteria is considerably potentiated by the addition of one or more strains of lactic acid bacteria that are capable of utilizing arginine. Arginine forms part of various small peptides found in biological fluids and it also occurs as free arginine and many bacterial species utilize it for their own nutrition and growth. Arginine-utilizing lactic acid bacteria can therefore deprive other, pathogenic or potentially pathogenic bacteria of a certain quantity of arginine, which

- though not enough to terminate their growth - makes them more susceptible to the action of the H_2O_2 produced by the lactic acid bacteria.

The present invention therefore provides a combination of lactic acid bacteria comprising:

(a) a first component consisting of at least one strain of H_2O_2 -producing lactic acid bacteria, and

(b) a second component consisting of at least one strain of arginine-utilizing lactic acid bacteria.

The strain of lactic acid bacteria in component (a) is preferably chosen from a group made up of the strains of the species *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus salivarius*, while the strain of lactic acid bacteria in component (b) is chosen from a group made up of the strains of the species *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus fermentum*. More especially, the strain of lactic acid bacteria in component (b) is the *Lactobacillus brevis* CD2 strain deposited in the DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany, with access number DSM 11988.

The ratio of the number of bacteria in component (a) to the number of bacteria in component (b) is preferably from 1 : 100 to 100 : 1, and more especially from 1 : 5 to 5 : 1, the most preferred ratio being 1 : 1.

The combination can be administered in the unit dosage form comprising from 1×10^2 to 5×10^{11} bacteria of component (a) and from 1×10^2 to 5×10^{11} bacteria of component (b), preferably 1×10^9 bacteria of component (a) and 3×10^9 bacteria of component (b).

The combination can also be administered in the form of tablets, sucking tablets, sweets, chewing gum, gelatin capsules, pessaries, suppositories and micro-enemas, as well as pellets, dental creams and gels, denture powders, mouthwashes, dentifrices, sprays, suspensions and ointments.

According to another embodiment of the invention, the combination additionally comprises at least one other strain of lactic acid bacteria chosen from a group made up of:

Lactobacillus acidophilus, *Lactobacillus buchneri*,
Lactobacillus casei, *Lactobacillus cateniformis*,
Lactobacillus cellobiosus, *Lactobacillus crispatus*,
Lactobacillus curvatus, *Lactobacillus delbrueckii*,
Lactobacillus jensenii, *Lactobacillus leichmannii*,
Lactobacillus minutus, *Lactobacillus plantarum*,
Lactobacillus salivarius, *Bifidobacterium adolescentis*,
Bifidobacterium angulatum, *Bifidobacterium bifidum*,
Bifidobacterium breve, *Bifidobacterium catenulatum*,
Bifidobacterium dentium, *Bifidobacterium eriksonii*,

Bifidobacterium infantis, *Bifidobacterium longum*,
Bifidobacterium plantarum and *Streptococcus thermophilus*.

The combination can also comprise vitamins, quaternary ammonium bases, mineral salts, antioxidants and anti-plaque agents.

The invention also relates to the use of a combination of lactic acid bacteria comprising:

(a) a first component consisting of at least one strain of H_2O_2 -producing lactic acid bacteria and

(b) a second component consisting of at least one strain of arginine-utilizing lactic acid bacteria, for making a food supplement, a hygiene product or a pharmaceutical preparation for the prevention and/or treatment of infections and inflammatory conditions caused by bacteria, viruses or fungi, especially in the mouth, vagina, urethra, nose, eyes and ears. These infections and inflammatory conditions include gingivitis, periodontitis, mucositis and stomatitis caused by drugs and/or physical agents, Behçet's syndrome, diakeratosis of the oral cavity, glossitis, sore throat, sialadenitis, sialolithiasis, pemphigus, *Lichen planus*, Sjögren's syndrome, vaginosis, vaginitis, urethritis, prostatitis, proctitis, otitis, conjunctivitis, rhinitis, sinusitis, leucoplakia,

aphthae, herpes, and infections with *Helicobacter pylori* in the oral cavity.

The combination can also be used to advantage for the treatment of the oral cavity as an oral deodorant, antiinflammatory, anti-caries and/or anti-plaque agent.

The following examples serve to illustrate the various aspects of the invention in more detail but should not be construed as in any way limiting the invention.

Example 1

The inhibitory effect of: H₂O₂-producing lactic acid bacteria (Component A); arginine-utilizing lactic acid bacteria (Component B); and the combination of the two strains, specifically in the ratio 1 : 1 (Combination AB); on the growth of potentially pathogenic bacteria was evaluated.

Briefly, the culture of lactic acid bacteria to be tested was first adjusted to a neutral pH, because an acidic pH itself inhibits bacterial growth. The suspension was subjected to sterile filtration, and the filtrate was used to impregnate a number of discs of absorbent paper (30 µl of filtrate per disc). The discs were placed on a plate of selective growth medium that had been inoculated with 0.1 ml of *Gardnerella vaginalis* (a strain which causes vaginosis and which

was isolated in a laboratory) together with a control disc that was impregnated only with 30 µl of distilled water. After incubation for 24 h at 37°C, the inhibition of the growth of the pathogens was evaluated by measuring the diameter of the halo around the disc in millimetres.

A second series of tests was carried out with *Streptococcus mutans* as the target pathogen, this species being the causative agent of dental plaque and caries.

The characterization of the bacteria as H₂O₂ producers was done by a classical benzidine peroxidase reaction, which reveals H₂O₂-producing colonies of bacteria by a blue coloration. The activity of arginine dehydrolase was determined to evaluate the ability of the lactic acid bacteria to utilize arginine (M.C. Manca de Nadra, *Milchwissenschaft*, 37 (1982) pp. 669-670].

The lactic acid bacteria were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, USA.

Bacterial strainHalo of inhibition
(anti-G. vaginalis
activity, mm)

H₂O₂ producer (Component A)

<i>Lactobacillus crispatus</i> (ATCC 39197)	75
<i>Lactobacillus salivarius</i> (ATCC 11741)	60
<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus salivarius</i>	63

Arginine utilizer (Component B)

<i>Lactobacillus brevis</i> (ATCC 14869)	0
<i>Lactobacillus fermentum</i> (ATCC 14931)	2
<i>Lactobacillus brevis</i> + <i>Lactobacillus</i> <i>fermentum</i>	0

Combination AB (ratio of A to B
1 : 1)

<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i>	112
<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	100

<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus brevis</i>	117
<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus fermentum</i>	104

Bacterial strain	Halo of inhibition (anti- <i>S. mutans</i> activity, mm)
H ₂ O ₂ producer (Component A)	
<i>Lactobacillus crispatus</i> (ATCC 39197)	98
<i>Lactobacillus salivarius</i> (ATCC 11741)	102
<i>Lactobacillus crispatus</i> + <i>Lactobacillus salivarius</i>	99
Arginine utilizer (Component B)	
<i>Lactobacillus brevis</i> (ATCC 14869)	0
<i>Lactobacillus fermentum</i> (ATCC 14931)	1
<i>Lactobacillus brevis</i> + <i>Lactobacillus</i> <i>fermentum</i>	1

Combination AB (ratio of A to B 1 : 1)

<i>Lactobacillus crispatus</i> +	
<i>Lactobacillus brevis</i>	118
<i>Lactobacillus crispatus</i> +	
<i>Lactobacillus fermentum</i>	126
<i>Lactobacillus salivarius</i> +	
<i>Lactobacillus brevis</i>	121
<i>Lactobacillus salivarius</i> +	
<i>Lactobacillus fermentum</i>	120

Example 2

Sucking tablets with the following unit composition were prepared:

Combination AB	4000 million
(<i>Lactobacillus salivarius</i> +	
<i>Lactobacillus brevis</i> , ratio 1 : 1)	
Mannitol	400 mg
Saccharin	5 mg
Polyoxyethylene	50 mg
Mg stearate	15 mg
Talc	25 mg
Silica	5 mg

These tablets were administered to four volunteers who were told not to clean their teeth or use chewing gum during the previous week. The subjects took three tablets a day for one week, after meals, allowing the tablets to dissolve in their mouth. Clinical evaluations were performed for both the dental plaque index and the gingival plaque index.

For the dental plaque the following scoring system was used on six teeth (first upper molar on the right; upper central incisor on the left; first upper premolar on the left; first lower molar on the left; lower central incisor on the right; first lower premolar on the right):

- 0 - no plaque at all
- 1 - no visible plaque
- 2 - visible plaque
- 3 - very obvious plaque.

The following scoring system was adopted for evaluating the gingival plaque, using the margin of the six teeth mentioned above:

- 0 - no inflammation
- 1 - slight inflammation
- 2 - moderate inflammation, with bleeding on contact

3 - marked inflammation, with a tendency to spontaneous bleeding.

The combined data obtained for the six teeth of the four volunteers were as follows:

<u>Subject</u>	<u>Dental plaque index</u>		<u>Gingival plaque index</u>	
	0	7 days	0	7 days
No. 1	8	2	7	1
No. 2	9	3	10	3
No. 3	15	5	6	2
No. 4	15	7	8	3

Example 3

Four subjects with a clinical and histological diagnosis of recurrent aphthous ulcers were treated for ten days with six sucking tablets a day, whose composition is given in Example 2.

All the patients treated showed a complete cure of the ulcers at the end of the ten-day course, and none of them had new ulcers during the following month.

To improve the flavour and appearance of the bacterial combination AB, suitable colouring agents and sweeteners such as saccharin, mint oil and xylitol can

be added, as is customary and well known to those skilled in the art.

The combination AB can be administered in the form of pellets, sweets, chewing gum, gelatin capsules, dental creams and gels, denture powders, mouthwashes, dentifrices, tablets, pessaries, suppositories, sprays, suspensions and micro-enemas.

Example 4Preparation of a toothpaste

Toothpaste base

Percentage composition:

Calcium phosphate dihydrate	37.5%
Glycerol (85% in water)	30.0%
Flavour (peppermint oil)	1.0%
Sodium carboxymethylcellulose	1.0%
Purified water	20.8%
Sodium saccharin (1% aq. solution)	2.5%
Sodium lauryl sulphate	2.0%
Purified water	<u>5.2%</u>
	100.0%

Composition by weight:

Calcium phosphate dihydrate	337.5 g
Glycerol (85% in water)	270.0 g
Flavour (peppermint oil)	9.0 g
Sodium carboxymethylcellulose	9.0 g
Purified water	187.2 g
Sodium saccharin (1% aq. solution)	22.5 g
Sodium lauryl sulphate	18.0 g
Purified water	<u>48.8 g</u>
	900.0 g

The glycerol was added to the calcium phosphate dihydrate, which had been ground and passed through a 50-mesh screen. The mixture was allowed to undergo hydration, giving a dense homogeneous paste. The flavour (1% of peppermint oil) was added at this point.

The sodium carboxymethylcellulose was hydrated in water overnight (concentration of 4.6% in purified water).

The solution of sodium saccharin was added to the resulting thick gel.

The polymer gel was poured into a mortar already containing the calcium phosphate that had been hydrated with glycerol, and the components were vigorously mixed.

An approximately 28% solution of sodium lauryl sulphate in purified water was prepared separately.

The sodium lauryl sulphate solution was then added to the thick dicalcium phosphate paste.

The resulting thick homogeneous paste, which had good rheological properties, was mixed for a few minutes and then refined by passing it through a refiner with rollers. This gave a snow-white homogeneous paste with a pleasant mint aroma.

38.5 g of lyophilized lactic acid bacteria (*L. salivarius* + *L. brevis*, 1 : 1; 10^{10} CFU/g) were passed through a 50-mesh screen and added in small

portions to the rest (770 g) of the above toothpaste base. The resulting homogeneous paste had a slightly pale brown colour and a mint odour.

Example 5Preparation of fast-release vaginal tablets

Vaginal tablets coated with an effervescent layer were prepared by wet granulation. The tablets weighed 2100 mg each and contained 100 mg of the combination of lactic acid bacteria as the active substance.

Each vaginal tablet had the following composition:

Lyophilized and screened lactic acid bacteria (30×10^9 of <i>L. brevis</i> , 30×10^9 of <i>L. salivarius</i> and 90×10^9 of <i>L. plantarum</i> per gram)	100.0 mg
Lactose	1368.0 mg
Cornstarch	246.0 mg
Adipic acid	192.0 mg
Sodium bicarbonate	150.0 mg
Magnesium stearate	30.0 mg
Stearic acid	9.0 mg
Colloidal silica	<u>5.0 mg</u>
	2100.0 mg

CLAIMS

1. Combination of lactic acid bacteria comprising

(a) a first component consisting of at least one strain of H_2O_2 -producing lactic acid bacteria, and

(b) a second component consisting of at least one strain of arginine-utilizing lactic acid bacteria.

2. Combination according to Claim 1, in which the strain of lactic acid bacteria in component (a) is chosen from a group made up of the strains of the species *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus salivarius*, while the strain of lactic acid bacteria in component (b) is chosen from a group made up of the strains of the species *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus fermentum*.

3. Combination according to Claim 2, in which the strain of lactic acid bacteria in component (b) is the *Lactobacillus brevis* CD2 strain deposited in the DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany with access number DSM 11988.

4. Combination according to any one of Claims 1-3, in which the ratio of the number of bacteria in component (a) to the number of bacteria in component (b) is from 1 : 100 to 100 : 1.

5. Combination according to Claim 4, in which the said ratio is from 1 : 5 to 5 : 1.

6. Combination according to Claim 5, in which the said ratio is 1 : 1.

7. Combination according to any one of the previous claims in unit dosage units comprising from 1×10^2 to 5×10^{11} bacteria of component (a) and from 1×10^2 to 5×10^{11} bacteria of component (b).

8. Combination according to Claim 7, comprising 1×10^9 bacteria of component (a) and 3×10^9 bacteria of component (b).

9. Combination according to Claim 7 or 8, in the form of tablets, sucking tablets, sweets, chewing gum, gelatin capsules, pessaries, suppositories and micro-enemas.

10. Combination according to any one of Claims 1-6, in the form of pellets, dental creams and gels, denture powders, mouthwashes, dentifrices, sprays, suspensions and ointments.

11. Combination according to any one of the previous claims, additionally comprising at least one other strain of lactic acid bacteria, chosen from a group made up of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cateniforme*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*,

Lactobacillus delbrueckii, *Lactobacillus jensenii*,
Lactobacillus leichmannii, *Lactobacillus minutus*,
Lactobacillus plantarum, *Lactobacillus salivarius*,
Bifidobacterium adolescentis, *Bifidobacterium*
angulatum, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium*
breve, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium*
dentium, *Bifidobacterium eriksonii*, *Bifidobacterium*
infantis, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium*
plantarum and *Streptococcus thermophilus*.

12. Combination according to any one of the previous claims, additionally comprising vitamins, quaternary ammonium bases, mineral salts, antioxidants and anti-plaque agents.

13. Use of a combination of lactic acid bacteria comprising:

(a) a first component consisting of at least one strain of H_2O_2 -producing lactic acid bacteria; and
(b) a second component consisting of at least one strain of arginine-utilizing lactic acid bacteria, for making a food supplement, a hygiene product or a pharmaceutical preparation for the prevention and/or treatment of infections and inflammatory conditions caused by bacteria, viruses or fungi, especially in the mouth, vagina, urethra, nose, eyes and ears.

14. Use according to Claim 13, in which the infections and inflammatory conditions include

gingivitis, periodontitis, mucositis and stomatitis caused by drugs and/or physical agents, Behçet's syndrome, diakeratosis of the oral cavity, glossitis, sore throat, sialadenitis, sialolithiasis, pemphigus, *Lichen planus*, Sjögren's syndrome, vaginosis, vaginitis, urethritis, prostatitis, proctitis, otitis, conjunctivitis, rhinitis, sinusitis, leucoplakia, aphthae, herpes, and infections with *Helicobacter pilori* in the oral cavity.

15. Use according to Claim 13 or 14 for the treatment of the oral cavity as a deodorant, antiinflammatory, anti-caries and/or anti-plaque agent.

On behalf of MENDES s.u.r.l.

Dott. Fabio Cavattoni